

**PENGARUH EKSTRAK DAUN SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata*, Ness) TERHADAP JUMLAH BAKTERI
PADA IKAN LELE (*Clarias batrachus*) YANG TELAH
DINFEKSI *Aeromonas hydrophila*.**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI S-1 BUDIDAYA PERAIRAN**



Oleh :

**FARICHATIN
LAMONGAN –JAWA TIMUR**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005**

**PENGARUH EKSTRAK DAUN SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata*, Ness) TERHADAP JUMLAH BAKTERI
PADA IKAN LELE (*Clarias batrachus*) YANG TELAH
DIINFEKSI *Aeromonas hydrophila*.**

**Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Perikanan pada Program Studi S-1 Budidaya Perairan
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga**

Oleh :
FARICHATIN
NIM. 060310087 P

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

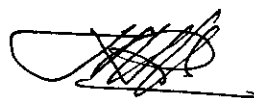


Drh. Didik Handijatno, M.S
Pembimbing I



Ir. Yudi Cahyoko, M.Si
Pembimbing II

Mengetahui,
Ketua Program Studi S-1
Budidaya Perairan



Prof. Dr. Hj. Sri Subekti, DEA., Drh
NIP. 130 687 296

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh, kami berpendapat bahwa Laporan Skripsi ini, baik ruang lingkupnya maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan.

Menyetujui,

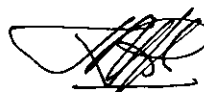
Panitia Penguji,



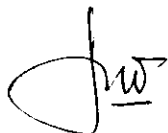
Ir. Sudarno, M. Kes
Ketua Penguji



Ir. Rahayu Kusdarwati, M. Kes
Sekretaris



Prof. Dr. Hj. Sri Subekti, DEA., drh
Anggota

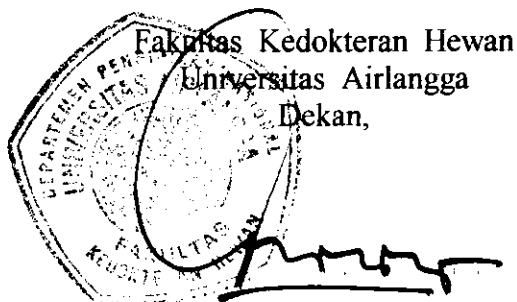


Drh. Didik Handijatno, M.S
Anggota



Ir. Yudi Cahyoko, M.Si
Anggota

Surabaya, Oktober 2005



Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh
NIP. 130 687 297

RINGKASAN

Farichatin. Dilakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) terhadap jumlah bakteri pada ikan Lele (*Clarias batrachus*) yang telah diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dibawah bimbingan Bapak Didik Handijatno, M. S., Drh sebagai pembimbing pertama dan Bapak Ir. Yudi Cahyoko, M.Si sebagai pembimbing kedua.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) sebagai antibakterial memiliki kemampuan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* pada ikan Lele (*Clarias batrachus*).

Dosis ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) yang digunakan yaitu 0 ppm, 100 ppm, 200 ppm dan 300 ppm. Ikan direndam terlebih dahulu pada masing-masing aquarium yang telah ditambahkan 2 ml suspensi bakteri yang telah disesuaikan dengan *Standard McFarland* no. 0,5 sampai timbul gejala klinis. Perlakuan perendaman menggunakan ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) dilakukan selama satu hari setelah itu ikan dipelihara dulu selama 4 hari, kemudian ikan pada masing-masing perlakuan dibedah untuk diambil insangnya, digerus dan diencerkan dengan konsentrasi 10^{-1} sampai 10^{-9} untuk kemudian ditanam pada media *McConkey Agar*, diinkubasi selama sehari lalu dihitung jumlah bakteri yang masih hidup dengan metode *Total Plate Count*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan dan lima ulangan, untuk pengolahan data

menggunakan uji *One Way Anova*, uji *Duncan Multiple Rate Test (DMRT)* (*SPSS for Windows*).

Pada penghitungan jumlah bakteri, diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata diantara hasil perlakuan, perlakuan dengan dosis 300 ppm menunjukkan hasil perlakuan terbaik dengan menunjukkan jumlah bakteri yang paling sedikit, sedangkan perlakuan kontrol menunjukkan hasil perlakuan paling rendah karena menunjukkan jumlah bakteri yang terbanyak.

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) sebagai antibakterial mampu menurunkan jumlah bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan Lele (*Clarias batrachus*).

Peneliti menyarankan perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut tentang histopatologi dari ikan yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* dengan dosis yang digunakan sebaiknya dibawah 300 ppm, serta pengaruh ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) terhadap pengendalian jenis bakteri yang lain.

SUMMARY

Farichatin. The effect of extract of Sambiloto leaves (*Andrographis paniculata*, Ness) against *Aeromonas hydrophila* infecting catfish (*Clarias batrachus*) was advised by Drh. Didik Handijatno, M.S., as the first advisor and Ir. Yudi Cahyoko, M.Si., as the second advisor.

The purpose of this research was to find out whether the extract of Sambiloto leaves (*Andrographis paniculata*, Ness) as an antibacterial had ability to kill or to inhibit amount *Aeromonas hydrophila* on the catfish (*Clarias batrachus*).

Dosages of Sambiloto leaves (*Andrographis paniculata*, Ness) extract used in this experiment were 0 ppm, 100 ppm, 200 ppm and 300 ppm respectively. Four aquariums were added 2 ml of liquid bacteria culture each until the water containing *Aeromonas hydrophila*, 10^8 CFU/ml. The liquid bacteria culture adjusted with standard of MacFarland No. 0,5. After that the catfishes (*Clarias batrachus*) were infected with *Aeromonas hydrophila* by culturing in each aquarium till clinical symptoms appeared. Then infected catfishes (*Clarias batrachus*) were soaked a day in Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) extract each. And then the catfishes (*Clarias batrachus*) cultured in fresh water for four days. Afterward, all catfishes (*Clarias batrachus*) on first, second, third and fourth treatment were dissected to take their gills each. The gills were ground and diluted to be 10^{-1} to 10^{-9} concentration and then cultured on McConkey agar media for a day incubation. Calculation of living bacteria was used Total Plate Count Method.

The experiment used Fully Randomize Design (FRD) consisted of four treatments and five repetitions. To know the effect of treatment using One Way Anova Test, for knowing differences among the treatments were used Duncan Multiple Range Test (DMRT) (SPSS for Windows).

Results of experiment indicated that there were differences among the treatments ($p < 0,05$). The dosage of Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) extract, 300 ppm was to show the best treatment for killing or inhibiting bacteria, whereas the dosage of Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) extract, 0 ppm had lowest ability for killing bacteria ($p < 0,05$). On the dosage of Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) extract, 300 ppm was gained lowest total of bacteria compared among the other treatments.

It was concluded that the extract of Sambiloto leaves (*Andrographis paniculata*, Ness) could inhibit or kill *Aeromonas hydrophila* on the catfishes (*Clarias batrachus*). The best treatment was obtained on the dosage of 300 ppm.

Base on the research result, it was suggested that future research about histopathology of the catfishes (*Clarias batrachus*) infected by *Aeromonas hydrophila* was highly required. And also, effect of Sambiloto leaves (*Andrographis paniculata*, Ness) extract on the other bacteria was important to try.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT yang selalu melimpahkan rahmat dan hidayah –Nya, sehingga penulis berhasil melaksanakan penelitian dan menyusun makalah seminar dengan baik dan lancar, makalah disusun berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) terhadap jumlah bakteri pada ikan Lele (*Clarias batrachus*) yang telah diinfeksi *Aeromonas hydrophila*.

Penulis menyadari bahwa keberhasilan penelitian mulai dari pengajuan judul hingga penulisan makalah seminar tidak lepas dari bantuan dan dukungan semua pihak. Pada kesempatan ini perkenankan penulis dengan rasa hormat menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ismudiono, M.S.,Drh. sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
2. Ibu Prof. Dr. Hj. Sri Subekti, DEA.,Drh sebagai Ketua Program Studi S-1 Budidaya Perairan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
3. Bapak Didik Handijatno, M.S., Drh. sebagai Dosen Pembimbing I dan Bapak Ir. Yudi Cahyoko, M.Si. sebagai Dosen Pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan saran, nasehat dan bimbingan dengan segala kesabaran.
4. Bapak Purjoto, Bapak Giri sebagai Asisten Bagian Mikrobiologi dan Mas Yusuf, Mas Darto selaku Asisten Laboratorium Basah yang selama ini telah banyak membantu dalam penelitian ini.

5. Kedua orang tuaku tercinta, Mas Alex, Mbak Arif dan semua saudaraku atas segala doa restu, dorongan semangat dan bantuannya.
6. Mas Imam Zakaria, yang selalu dengan setia dan sabar mendampingi, memberi semangat, dorongan juga bantuan yang sangat besar kepada penulis.
7. Seluruh penghuni villa M-170, terima kasih atas segala bantuan, perhatian dan kasih sayangnya yang sangat berarti selama ini.
8. Seluruh teman-teman BP angkatan 2001 dan transfer, yang memberikan bantuan baik langsung maupun tidak langsung.
9. Rekan-rekan se-almamater dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu menyelesaikan skripsi.

Akhirnya, disadari sepenuhnya bahwa penyusunan penulisan ilmiah ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu kritik dan saran yang membangun penulis harapkan guna penyempurnaan laporan ini. Semoga laporan ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan pada umumnya dan Budidaya Perairan pada khususnya.

Surabaya, Oktober 2005

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
RINGKASAN	iv
SUMMARY	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Judul	1
1.2 Latar Belakang.....	1
1.3 Perumusan Masalah.....	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> , Ness).....	5
2.1.1 Klasifikasi	5
2.1.2 Morfologi	5
2.1.3 Habitat dan Penyebaran	6
2.1.4 Kandungan Kimia	7

2.1.5 Khasiat dan Kegunaan	7
2.2 Ikan Lele (<i>Clarias batrachus</i>).....	8
2.2.1 Klasifikasi	8
2.2.2 Morfologi	9
2.2.3 Habitat dan Syarat Hidup	10
2.2.4 Makanan dan Kebiasaan Makan	10
2.3 <i>Aeromonas hydrophila</i>	11
2.3.1 Klasifikasi	11
2.3.2 Morfologi	11
2.3.3 Habitat dan Penyebaran	12
2.3.4 Patogenitas dan Gejala Klinis.....	12
BAB III KONSEPTUAL PENELITIAN DAN HIPOTESIS	14
3.1 Konseptual Penelitian	14
3.2 Hipotesis	15
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN.....	16
4.1 Tempat dan Waktu.....	16
4.2 Materi Penelitian	16
4.2.1 Peralatan Penelitian	16
4.2.2 Bahan Penelitian	17
4.3 Metode Penelitian	17
4.3.1 Pembuatan Suspensi <i>Aeromonas hydrophila</i>	17
4.3.2 Pembuatan Ekstrak Daun Sambiloto (<i>Andrographis paniculata, Ness</i>)	17
4.3.3 Persiapan Hewan Coba	18

4.3.4 Perlakuan Penelitian	18
4.3.5 Isolasi dan Identifikasi <i>Aeromonas hydrophila</i>	20
4.3.6 Pengenceran dan Penghitungan <i>Aeromonas hydrophila</i>	22
4.3.7 Rancangan Penelitian dan Analisis Data	23
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	24
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	31
6.1 Kesimpulan	31
6.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Identifikasi Bakteri.....	24
2. Total Bakteri Pada Insang Ikan Lele (<i>Clarias batrachus</i>) Dengan Berbagai Perlakuan Perendaman Ekstrak Daun Sambiloto (<i>Andrographis paniculata, Ness</i>)	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> , Ness)	5
2. Ikan Lele (<i>Clarias batrachus</i>).....	9
3. Proses Perlakuan Penelitian.....	44
4. Ikan yang Terinfeksi	44
5. Peralatan Perlakuan.....	45
6. Hasil Uji Biokimia.....	45
7. Media yang Ditumbuhi Bakteri	46
8. Media yang Tidak Ditumbuhi Bakteri	46
9. <i>Colony Counter</i>	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Kerangka Konseptual Penelitian	36
2. Prosedur Kerja Secara Skematis.....	37
3. Bagan Pengenceran dan Penghitungan <i>Aeromonas hydrophila</i> dari Insang Ikan	38
4. Hasil Total Bakteri pada Insang Ikan Lele (<i>Clarias batrachus</i>) dengan Berbagai Perlakuan Perendaman Ekstrak Daun Sambiloto (<i>Andrographis paniculata, Ness</i>)	39
5. Hasil Total Bakteri pada Insang Ikan Lele (<i>Clarias batrachus</i>) dengan Berbagai Perlakuan Perendaman Ekstrak Daun Sambiloto (<i>Andrographis paniculata, Ness</i>) (Setelah ditransformasikan ke Log Y + 1).....	40
6. Rancangan Acak Lengkap	41
7. Hasil Uji <i>One Way ANOVA</i>	42
8. Hasil Uji <i>Duncan Multiple Rate Test</i>	43

BAB I
PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Judul

PENGARUH EKSTRAK DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*, Ness) TERHADAP JUMLAH BAKTERI PADA IKAN LELE (*Clarias batrachus*) YANG TELAH DIINFEKSI *Aeromonas hydrophila*.

1.2 Latar Belakang

Dewasa ini perkembangan penduduk telah membawa dampak yang cukup luas di berbagai sektor kehidupan, penambahan penduduk tidak hanya menuntut peningkatan penyediaan bahan pangan, tetapi juga peningkatan gizi. Berbagai upaya telah ditempuh untuk meningkatkan produksi pangan dan upaya peningkatan gizi pun mulai diperhatikan. Akhir-akhir ini permintaan akan produk perikanan yang memenuhi kebutuhan gizi makin meningkat, salah satu cara yang bisa menjawab tuntutan kebutuhan gizi adalah dengan mengembangkan usaha budidaya ikan (Afrianto dan Liviawaty, 1998).

Budidaya ikan Lele (*Clarias batrachus*) dewasa ini semakin banyak peminatnya karena selain cepat pertumbuhannya juga mempunyai daya tahan tubuh yang baik dan banyak digemari masyarakat, Oleh sebab itu ikan Lele banyak dibudidayakan terutama oleh para petani tradisional.

Menurut Sutjiati (1990) usaha peningkatan produksi dengan penerapan teknologi budidaya akan terganggu apabila ada penyakit. Timbulnya penyakit

ikan yang disebabkan oleh penyebab fisik dan kimiawi pada umumnya tidak menular (non infeksi), sedangkan penyakit yang ditimbulkan oleh penyakit infeksius kebanyakan menular, baik secara horisontal (dari satu jenis individu ke individu yang lain) maupun secara vertikal (dari satu jenis ikan ke jenis ikan yang lain).

Penyakit menular dapat disebabkan oleh virus, bakteri, dan parasit. Sebagian besar penyakit ikan yang disebabkan oleh bakteri merupakan kelompok bakteri gram negatif, salah satunya adalah *Aeromonas hydrophila* (Zonneveld *et al.*, 1991). Gejala klinis yang tampak pada ikan yang terinfeksi oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah pendarahan eksternal pada daerah sirip yang berkembang pada daerah perut . Walaupun demikian, ikan dapat sebagai pembawa (*carrier*) penyakit infeksius dalam waktu yang lama tanpa menunjukkan adanya gejala klinis.

Dengan banyaknya wabah penyakit yang menyerang usaha budidaya perikanan, berbagai penelitian mengenai identifikasi dan penanggulangan penyakit bakterial dilakukan. Sampai saat ini metode penanggulangan penyakit yang banyak diaplikasikan yaitu menggunakan antibiotika. Penggunaan antibiotika sebagai pengobatan selain mahal juga tidak selamanya aman karena jika diberikan secara terus dan tidak sesuai dosis dapat menyebabkan munculnya bakteri yang resisten terhadap antibiotika tersebut (WHO, 1998). Oleh sebab itu dibutuhkan alternatif pengobatan yang menggunakan bahan dari alam, salah satunya yaitu menggunakan daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) yang diambil ekstraknya kemudian diaplikasikan pada hewan yang sakit. Beberapa penelitian terhadap ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*,

Ness) menunjukkan bahwa daun tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) mempunyai aktivitas antibakterial dan telah dilakukan penelitian terhadap beberapa bakteri (Kardono, 2003).

Berdasarkan penelitian laboratorium terdahulu maka perlu diketahui dosis optimal dari ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) yang dapat diaplikasikan pada ikan lele.

1.3 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan tersebut, maka dapat dirumuskan masalah yaitu bagaimana pengaruh perendaman ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) terhadap jumlah bakteri pada ikan Lele (*Clarias batrachus*) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila* ?

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui daya antibakterial ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) terhadap *Aeromonas hydrophila*.
2. Menentukan dosis yang efektif untuk mengobati penyakit akibat infeksi *Aeromonas hydrophila* yang menyerang ikan Lele (*Clarias batrachus*).

1.5 Manfaat Penelitian

Diharapkan dari hasil penelitian ini antara lain :

1. Dapat memanfaatkan bahan obat dari alam (tanaman herbal) yaitu daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) sebagai alternatif pengganti antibiotika.
2. Dapat memberikan informasi pada petani ikan untuk memanfaatkan obat dari alam yang aman bagi konsumen dan mengandung residu pada ikan.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness.)

2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness.) menurut Winarto (2003), adalah sebagai berikut :

Divisio	: Spermatophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Ordo	: Solanales
Famili	: Acanthaceae
Genus	: <i>Andrographis</i>
Species	: <i>Andrographis paniculata</i> , Ness.

2.1.2 Morfologi



Gambar 1. Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness)

Tumbuhan Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness.) mempunyai bentuk tegak lurus dengan tinggi 0,4 – 1 m, daun tunggal, bertangkai pendek, letak berhadapan, bersilang bentuk lanset, pangkal runcing, ujung meruncing, tepi rata, permukaan atas hijau tua, bagian bawah hijau muda, panjang 2 – 8 cm, lebar 1 – 3 cm, keluar dari ujung batang atau ketiak daun. Bunga berbibir berbentuk tabung, kecil – kecil, warnanya putih bernoda ungu. Buah kapsul berbentuk jorong, panjang sekitar 1,5 cm, lebar 0,5 cm, pangkal dan ujung tajam, bila masak akan pecah membujur menjadi 4 keping – biji gepeng, kecil – kecil warnanya coklat muda, jumlahnya tidak terhitung (Dalimartha, 1999).

2.1.3 Habitat dan Penyebaran

Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) tumbuh ditempat terbuka, kebun, tepi sungai, tanah kosong yang agak lembab, semak atau dipekarangan, tanah yang gembur dan seringkali tumbuh berkelompok disepanjang sungai (1 sampai 700 m diatas permukaan laut).

Tanaman jenis ini tersebar di India, Semenanjung Malaya, kepulauan Indonesia meliputi Sumatera, Sulawesi, Kepulauan Nusa Tenggara, Maluku, Kalimantan. Salah satu dampak dari penyebaran tersebut yaitu adanya nama yang berbeda – beda sesuai dengan lokasi tumbuhnya. Di daerah Sumatera, Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) dikenal dengan sebutan Sambilota (Melayu), Ampadu tanah (Sumatera Barat), di Jawa Tengah dikenal dengan Kipahit, Bidara, Andiloto, sedang di daerah Madura disebut dengan Ki Oray dan di daerah Sunda dikenal dengan tumbuhan Kipahit (Prapanza dan Marianto, 2003).

2.1.4 Kandungan Kimia

Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) mengandung saponin, flavonoid, dan tannin, merupakan tumbuhan yang kaya kandungan kimia diantaranya; lakton yang terdiri dari *deoxy-andrographolide*, *andrographolide* (zat ini menghasilkan rasa pahit yang luar biasa dan umumnya zat ini mengandung racun, kadar *andrographolide*nya sebesar 2,5 – 4,8 % dari berat keringnya, merupakan komponen utama dalam Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) yang memiliki multiefek farmakologis), *neoandrographolide*, *14-deoxy-11, 12 didehydroandrographolide*, dan *homoandrographolide*. Flavonoid dari akar mengandung *polymethoxyflavone*, *andrographin*, *panicoline*, *mono-o-methylwithan*, *apigenin-7,4-dimethyl ether*, *alkane*, *ketone*, *aldehyde*, kalium, kalsium, natrium, asam kersik, dan damar (Winarto, 2003).

2.1.5 Khasiat dan Kegunaan

Penelitian mengenai kandungan kimia dan khasiat dari tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) baik di dalam maupun di luar negeri telah banyak dilakukan. Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat kelompok fitoterapi. Khasiatnya telah dibuktikan baik secara empiris berdasarkan pengalaman maupun melalui penelitian-penelitian ilmiah yang telah dilakukan selama ini. Sebagai contoh, penggunaan Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) sebagai obat kudis, obat disentri telah dibuktikan dengan adanya hasil penelitian yang menyatakan bahwa ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) mempunyai efek antibakterial, diantaranya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Shigella*

disentriae dan lain sebagainya. Herbal ini juga berkhasiat bakteriostatik pada *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* dan *Escherichia coli* (Dalimartha, 1999).

Daya antibakterial lebih lanjut dilaporkan oleh Kardono (2003) menggunakan metode pengenceran agar. Ekstrak *Andrographis paniculata*, Ness diuji aktivitas antibakterialnya melawan patogen *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus* sp, 10 strain dari bakteri *Vibrio*. Aktivitas antibakterial ternyata didapatkan dari fraksi *Butanol* yang terdiri dari 4 diterpen yaitu *andrographolide*, *neoandrographolide*, *deoxyandrographolide* dan *andrographiside*.

2.2 Ikan Lele (*Clarias batrachus*)

2.2.1 Klasifikasi

Klasifikasi ikan Lele (*Clarias batrachus*) menurut Khairuman dan Amri (2002), adalah sebagai berikut :

Phylum	: Chordata
Class	: Pisces
Ordo	: Ostariophysi
Subordo	: Siluroidea
Famili	: Clariidae
Genus	: <i>Clarias</i>
Species	: <i>Clarias batrachus</i>

Ikan Lele (*Clarias batrachus*) mempunyai nama daerah yang berbeda-beda tergantung dari asal daerah masing-masing diantaranya ; di pulau Jawa disebut

ikan Lele, di Sumatera disebut ikan Kalang, di Kalimantan disebut Pintet, dan di Makassar disebut dengan ikan Keling (Suyanto, 1992).

2.2.2 Morfologi



Gambar 2. Ikan Lele (*Clarias batrachus*)

Bentuk badannya memanjang dan berkepala pipih yang dilindungi oleh lempengan tulang kepala yang keras, kulitnya tidak bersisik, berlendir, berpigmen hitam pada bagian punggung (*dorsal*) dan bagian samping (*lateral*), mulutnya lebar dan terdapat empat pasang sungut (barbel) yang memanjang sebagai alat peraba untuk mencari makan yaitu: sepasang sungut hidung, sepasang sungut maksilar (berfungsi sebagai tentakel), dua pasang sungut mandibular yang terdiri dari mandibular bagian dalam dan mandibular bagian luar. Ikan Lele (*Clarias batrachus*) mempunyai alat pernapasan tambahan berbentuk seperti pohon yang biasa disebut *arborescent organ* yang tumbuh pada insang kedua dan keempat, sehingga ikan Lele (*Clarias batrachus*) dapat mengambil oksigen langsung dari udara bebas.

Ciri morfologi yang lebih spesifik adalah warna tubuhnya ada yang coklat gelap dan coklat terang bahkan ada yang hitam. Hal lain yang menjadi ciri khas

ikan Lele (*Clarias batrachus*) yaitu terletak pada *patilnya* bukan bentuk atau fungsi dari *patil* itu tetapi daya sengatnya atau bisanya (Khairuman dan Amri, 2002).

2.2.3 Habitat dan Syarat Hidup

Ikan Lele (*Clarias batrachus*) berada di air tawar dan tidak pernah ditemukan di air payau atau air asin. Ikan Lele (*Clarias batrachus*) dapat hidup di daerah dataran rendah dan dataran tinggi hingga ketinggian 700 m di atas permukaan laut. Karena dilengkapi alat pernafasan tambahan maka ikan Lele (*Clarias batrachus*) bisa mengambil langsung dari udara sehingga dapat dipelihara diperairan yang kandungan oksigennya rendah, seperti di comberan, kolam atau tempat penampungan air limbah. Disamping itu ikan Lele (*Clarias batrachus*) tahan terhadap pencemaran bahan-bahan organik. Sedangkan kualitas air yang memenuhi persyaratan untuk budidaya ikan Lele yaitu suhu 25-32 °C, oksigen terlarut maksimal 5 mg/l, CO₂ maksimal 12 mg/l, pH 6,5-8,5, amonia maksimal 1 mg/l (Khairuman dan Amri, 2002).

2.2.4 Makanan dan Kebiasaan Makan

Ikan Lele (*Clarias batrachus*) termasuk ikan jenis karnivor (pemakan daging). Makanan alami ikan Lele (*Clarias batrachus*) adalah binatang-binatang renik seperti kutu air dari golongan *Daphnia*, *Cladocera* dan *Copepoda*. Ikan Lele (*Clarias batrachus*) juga memakan berbagai jenis cacing, larva jentik nyamuk atau siput-siput kecil. Jika telah dibudidayakan ikan Lele (*Clarias batrachus*) mau mengkonsumsi makanan buatan seperti pellet.

Di habitat aslinya ikan Lele (*Clarias batrachus*) menyukai hidup bersembunyi di dalam lubang-lubang yang terdapat diperairan (Khairuman dan Amri, 2002).

2.3 *Aeromonas hydrophila*

2.3.1 Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* menurut Madigan *et al.* (2000), adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Subphylum	: γ Proteobacteria
Class	: Zymobacteria
Ordo	: Aeromonadales
Famili	: Aeromonadaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Species	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

2.3.2 Morfologi

Bakteri *Aeromonas hydrophila* memiliki ciri-ciri yaitu berbentuk batang, ukuran 1,4 x 0,4 – 1 μ m, fakultatif aerob, gram negatif, tidak berspora, motil / bergerak aktif karena mempunyai satu flagel (*monotrichous flagella*) yang keluar dari salah satu kutubnya (Kordi , 2004).

2.3.3 Habitat dan Penyebaran

Bakteri *Aeromonas* umumnya hidup di air tawar yang mengandung bahan organik tinggi dan senang hidup di lingkungan bersuhu 15-30 °C dan pH 5 – 5,9 (Sitanggang, 2002).

Penularan bakteri *Aeromonas* berlangsung melalui media air, kontak langsung dengan ikan terinfeksi, kontak dengan peralatan tercemar atau karena pemindahan ikan yang telah terinfeksi *Aeromonas hydrophila* dari satu tempat ke tempat yang lain (Kordi , 2004).

2.3.4 Patogenitas dan Gejala Klinis

Sutjiati (1990) mengatakan bahwa timbulnya penyakit merupakan hasil interaksi antara ikan, organisme patogen dan faktor lingkungan. Dalam interaksi ini faktor lingkungan memegang peranan yang sangat penting karena dapat menimbulkan pengaruh positif maupun negatif terhadap hubungan antara ikan dengan patogen, interaksi yang tidak seimbang dapat menyebabkan *stress* sehingga mekanisme pertahanan yang dimiliki menjadi lemah dan akhirnya mudah terserang penyakit.

Bakteri *Aeromonas hydrophila* menyebabkan penyakit pada ikan yang dikenal sebagai *Motil Aeromonas Septicaemia (MAS)*, *ulcer disease* atau *red sore disease*, hal tersebut berhubungan dengan adanya luka pada beberapa organ ikan terutama pada kulit (Swann, 1991).

Ikan yang terserang bakteri ini biasanya memperlihatkan gejala-gejala berupa ; warna tubuh menjadi gelap, seluruh sirip rusak, mata menonjol, sisik terkuak, kemampuan berenangya menurun, kerusakan insang dan berwarna merah

keputihan sehingga sulit bernafas. Bila dilakukan pembedahan pada organ internal (hati, ginjal dan limfa) terlihat adanya pendarahan, serangan bakteri ini bersifat laten (berkepanjangan) sehingga tidak memperlihatkan gejala klinis meskipun telah dijumpai pada tubuh ikan. Serangan ini baru terlihat apabila ketahanan tubuh ikan menurun akibat stres (Kordi , 2004).

Gejala pada setiap ikan yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* berbeda tergantung dari beberapa faktor seperti : daya tahan tubuh ikan, virulensi bakteri dan faktor lingkungan yang menimbulkan *stress* pada ikan (Swann, 1991)

BAB III
KONSEPTUAL PENELITIAN
DAN HIPOTESIS

BAB III

KONSEPTUAL PENELITIAN DAN HIPOTESIS

3.1 Konseptual Penelitian

Dengan adanya perkembangan penduduk yang semakin tinggi tidak hanya menuntut penyediaan bahan pangan tetapi juga pemenuhan bidang gizi, salah satu cara untuk bisa menjawab tuntutan tersebut yaitu dengan usaha pengembangan budidaya. Menurut Sutjiati (1990) usaha peningkatan produksi dengan penerapan teknologi budidaya akan terganggu apabila terdapat penyakit, sehingga berdampak pada penurunan hasil produksi. Dengan banyaknya wabah penyakit yang menyerang usaha budidaya, berbagai penelitian mengenai identifikasi dan penanggulangan dilakukan tetapi sampai saat ini metode penanggulangan penyakit yang banyak diterapkan yaitu menggunakan antibiotika, padahal selain mahal, penggunaan antibiotika tidak selamanya aman dan jika diberikan secara terus dan tidak sesuai dosis dapat menyebabkan terjadinya bakteri yang resisten terhadap antibiotika tersebut (Nugroho, 1988). Oleh sebab itu dibutuhkan alternatif pengobatan dengan menggunakan daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) yang mempunyai kandungan senyawa saponin, flavonoid, tannin, *andrographolide*. Ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) telah dilaporkan mempunyai efek antibakterial (Kardono, 2003).

Pelarut yang digunakan dalam ekstrak tersebut yaitu *ethanol*, hal ini disesuaikan dengan zat aktif yang terkandung didalamnya, dan diharapkan

ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) ini dapat menggantikan penggunaan antibiotika untuk mengobati penyakit pada ikan khususnya yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Berdasarkan permasalahan tersebut , maka dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) terhadap jumlah bakteri pada ikan yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Penelitian ini dilakukan dengan metode perendaman menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan dan lima kali ulangan.

Parameter yang diukur adalah perlakuan yang mampu menunjukkan jumlah bakteri yang paling sedikit. Hasil penelitian diharapkan ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) dapat menghambat atau membunuh bakteri *Aeromonas hydrophila* yang ditunjukkan dengan penurunan jumlah bakteri yang masih hidup (Bagan dapat dilihat pada lampiran 1)

3.2 Hipotesis

Pemberian ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda terhadap jumlah bakteri pada ikan Lele (*Clarias batrachus*) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*.

BAB IV
METODOLOGI PENELITIAN

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 1 sampai dengan 30 Agustus 2005 bertempat di Laboratorium Pendidikan Perikanan Fakultas Kedokteran Hewan, Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi, Laboratorium Mikrobiologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

4.2 Materi Penelitian

4.2.1 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk ekstraksi daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness.*) adalah timbangan, toples kaca, mesin giling, kertas saring, dan *rotary vacuum evaporator*.

Sedangkan peralatan yang digunakan untuk perlakuan antara lain *aquarium* 20 buah, kran dan selang aerator, batu aerasi, *seser, filter, pipet, becker glass, erlenmeyer*, mortar, gelas ukur, kasa, dan gayung.

Peralatan yang digunakan untuk penghitungan jumlah bakteri antara lain, cawan Petri, ose, pembakar Bunsen, tabung reaksi, pipet, *colony counter*, dan rak tabung (semua peralatan yang digunakan untuk penelitian dalam keadaan steril).

4.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness.) yang dibuat dengan cara daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness.) kering 0,5 kg diberi pelarut *ethanol* 96 % ; ikan Lele (*Clarias batrachus*) 200 ekor ukuran 5 - 7 cm ; bakteri *Aeromonas hydrophila*; media *McConkey Agar*.

4.3 Metode Penelitian

4.3.1 Pembuatan Suspensi *Aeromonas hydrophila*

Isolat murni *Aeromonas hydrophila* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga diambil dengan menggunakan ose steril dan dimasukkan ke dalam media MHB hingga kekeruhannya sebanding dengan *Standar Mc Farland* nomor 0,5 (Koneman, 1991).

Pembuatan *Standard Mc Farland* nomor 0,5 yaitu dengan cara 0,05 ml BaCl_2 1 % dicampur dengan 9,95 ml H_2SO_4 1%, kemudian ditambahkan larutan PZ sebanyak 4 ml (Anonimus, 2002).

4.3.2 Pembuatan Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness)

Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) kering diperoleh dari Pasar Pabean Surabaya, selanjutnya dilakukan penggilingan sampai menjadi serbuk sebanyak 0,5 kg kemudian dimaserasi menggunakan pelarut *ethanol* 96 % selama 3 x 24 jam pada suhu kamar setelah itu pelarutnya diuapkan dengan

menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*).

4.3.3 Persiapan Hewan Coba

Air yang digunakan untuk media pemeliharaan berasal dari air PDAM, sebelum digunakan air diendapkan dan diaerasi kurang lebih tiga hari untuk menghilangkan klorin. Pada tahap persiapan ini ikan Lele diadaptasikan selama satu minggu setelah sebelumnya direndam dengan *tetracycline* dengan dosis 5 ppm selama 24 jam. Ikan Lele (*Clarias batrachus*) sebanyak 200 ekor dengan ukuran 5 - 7 cm dibagi dalam jumlah yang sama dan masing-masing akuarium berisi 10 ekor.

4.3.4 Perlakuan Penelitian

Setelah adaptasi selama satu minggu, semua kelompok perlakuan dari hewan coba diinfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan perendaman melalui air media pemeliharaan dengan konsentrasi 10^8 Colony Forming Unit (CFU) / ml selama kurang lebih tiga hari sampai ikan menunjukkan gejala klinis berupa warna tubuh semakin gelap, nafsu makan menurun, gerakan renang tidak teratur.

Setelah masa infeksi, ikan akan diberi perlakuan sesuai dengan kelompok perlakuan sebagai berikut :

Kelompok I (Kontrol) : Ikan diinfeksi *Aeromonas hydrophila* tanpa diberi ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*).

- Kelompok II (P) : Ikan diinfeksi *Aeromonas hydrophila* kemudian direndam dengan ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) dosis 100 ppm.
- Kelompok III (Q) : Ikan diinfeksi *Aeromonas hydrophila* kemudian direndam dengan ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) dosis 200 ppm.
- Kelompok IV (R) : Ikan diinfeksi *Aeromonas hydrophila* kemudian direndam dengan ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) dosis 300 ppm.

Pemberian perlakuan berdasarkan dari hasil pengamatan penelitian pendahuluan yang diperoleh hasil bahwa pada dosis 0 ppm dan 200 ppm tidak menimbulkan kematian pada ikan selama perlakuan, pada dosis 400 ppm kematian terjadi setelah 18 jam perendaman, pada dosis 600 ppm kematian terjadi 15 jam setelah perendaman, pada dosis 800 ppm kematian terjadi setelah tujuh jam perendaman dan pada dosis 1000 ppm kematian terjadi setelah tiga jam perendaman.

Mengacu pada penelitian pendahuluan sebelumnya maka dosis perlakuan pada penelitian ini digunakan antara 0 sampai 300 ppm karena pada tingkat dosis tersebut belum menimbulkan kematian pada ikan setelah perendaman dengan ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) selama sehari.

Perendaman menggunakan ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) dilakukan selama satu hari setelah itu ikan dipelihara dulu selama 4 hari kemudian baru dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri serta uji biokimiawi.

4.3.5 Isolasi dan Identifikasi *Aeromonas hydrophila*

Isolasi dan identifikasi *Aeromonas hydrophila* dilakukan pada saat pasca infeksi. Isolasi dilakukan dengan cara menanam suspensi insang ikan pada media agar, sedang identifikasi dilakukan dengan cara pengujian biokimiawi.

Cara isolasi dan identifikasi *Aeromonas hydrophila* dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut :

Uji Bakteriologis :

Insang ikan Lele (*Clarias batrachus*) digerus menggunakan mortar steril, diambil sebanyak satu gram kemudian ditambah dengan larutan NaCl fisiologis sebanyak sembilan ml untuk dijadikan suspensi 10%. Suspensi yang telah dibuat disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Selanjutnya, supernatan dipisahkan dan ditanam pada media *Trypticase Soya Agar* (TSA), inkubasi dilakukan pada suhu kamar selama 24 jam.

Pada media TSA, koloni *Aeromonas hydrophila* bewarna bening transparan, bulat dengan tepi rata. Jika terdapat bentukan koloni seperti di atas maka dilakukan identifikasi dengan uji biokimiawi untuk menentukan spesies koloni tersebut adalah *Aeromonas hydrophila*.

Uji Biokimiawi :

Pengujian biokimiawi yang dilakukan meliputi uji dengan menggunakan media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulfid Indol Motility Agar* (SIMA), *Simon Citrat Agar* (SCA) dan *Urea Agar*.

1. *Tripple Sugar Iron Agar (TSIA)*

Pemupukan pada media TSIA dilakukan dengan cara mengambil bakteri dengan *needle* steril, lalu dipupuk dengan cara tusukan pada bagian dasar tabung agar dan goresan pada bagian agar yang miring kemudian media diinkubasi pada temperatur 27 °C selama 24 jam.

Pemupukan pada media TSIA bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri memfermentasikan glukosa, laktosa, sukrosa, dan juga untuk mengetahui apakah bakteri membentuk H₂S dan gas.

2. *Sulfide Indol Motility Agar (SIMA)*

Pemupukan pada media SIM dilakukan dengan cara mengambil bakteri dengan *needle* steril, lalu dipupuk dengan cara tusukan hingga setengah bagian media, kemudian media diinkubasi pada temperatur 27 °C selama 24 jam.

Pengamatan dilakukan dengan menambahkan kloroform dan reagen *Kovach* sama banyak. Hasil positif terlihat dengan terbentuknya cincin indol warna merah. Untuk mengetahui motilitas dapat dilihat pada media, jika media keruh maka bakteri tersebut bersifat motil.

3. *Simon Citrat Agar (SCA)*

Pemupukan pada media ini dilakukan dengan cara mengambil bakteri dengan ose steril, lalu dipupuk dengan cara penggoresan pada permukaan media, kemudian media diinkubasi pada temperatur 27 °C selama 24 jam.

Tujuannya adalah untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan unsur karbon dari sitrat sebagai sumber karbohidrat. Hasil positif dapat terlihat dengan adanya perubahan warna dari hijau menjadi biru.

4. Urea Agar

Pemupukan pada media ini dilakukan dengan cara mengambil bakteri dengan ose steril, lalu dipupuk dengan cara penggoresan pada permukaan media, kemudian media diinkubasi pada temperatur 27 °C selama 24 jam.

Tujuannya adalah untuk mengetahui apakah bakteri memproduksi enzim urease. Produksi urease dan hidrolisis urea akan menghasilkan ammonia, menyebabkan pH naik, sehingga dengan adanya indikator *phenol red medium* akan berwarna merah muda.

Menurut Cowan dan Steel (1974) sifat *Aeromonas hydrophila* adalah sebagai berikut : batang pendek, Gram negatif, motil, indol positif, fermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa, urease positif dan produksi gas.

4.3.6 Pengenceran dan Penghitungan *Aeromonas hydrophila*

Langkah pertama adalah membuat suspensi insang ikan seperti di atas, kemudian disiapkan 9 tabung reaksi yang telah disterilkan, masing-masing tabung diisi cairan NaCl fisiologis sebanyak 9 ml. Pada tabung pertama ditambahkan 1 ml suspensi bakteri menggunakan pipet steril kemudian dikocok perlahan-lahan. Dari tabung pertama tersebut, diambil 1 ml dengan menggunakan pipet steril lainnya dan dimasukkan ke dalam tabung kedua. Dari

tabung kedua, diambil 1 ml dengan menggunakan pipet steril lainnya, dan seterusnya. Pengenceran dilakukan secara berseri hingga tabung kesembilan.

Untuk menghitung jumlah bakteri, dapat dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC) (Jang *et al.*, 1980), yaitu dengan cara setiap tabung dari hasil pengenceran, satu persatu diambil 0,1 ml dan diinokulasi pada medium padat selama 24 jam dengan suhu 27 °C. Jumlah koloni yang dihitung antara 30 - 300 (Beisher, 1983). Bagan cara pengenceran dan penghitungan bakteri dapat dilihat pada lampiran 3.

4.3.7 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan (t) dan lima kali ulangan (n) sehingga diperoleh 20 satuan percobaan. Sedangkan untuk menentukan jumlah ulangan diperoleh dari rumus :

$$t(n-1) \geq 15 ; (\text{Frederer, 1963 dikutip oleh Kusriningrum, 1998}).$$

$$\rightarrow 4(n-1) = 15$$

$$\rightarrow 4n - 4 = 15 \rightarrow n = 19/4 \rightarrow n = 4,8 = 5 \text{ (dibulatkan)}$$

Parameter yang diukur adalah jumlah bakteri *Aeromonas hydrophila* pada insang ikan Lele (*Clarias batrachus*) setelah diberi perlakuan ekstrak daun Sambilotto (*Andrographis paniculata*, Ness).

Sedangkan untuk data hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan uji *One Way Anova*, apabila terdapat perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) (*SPSS for Windows*).

BAB V
HASIL DAN PEMBAHASAN

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dilakukan penelitian tentang pengaruh ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) terhadap jumlah bakteri pada ikan Lele (*Clarias batrachus*) yang telah diinfeksi *Aeromonas hydrophila* dengan metode perendaman.

Hasil identifikasi bakteri yang digunakan sebagai bahan penelitian adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Identifikasi Bakteri

Uji Biokimia	Hasil
Motil	+
Indol	+
Glukosa	+
Laktosa	+
Sukrosa	+
Produksi gas	+
H ₂ S	+
Reduksi Nitrat	+
Urease	+
Citrat	+
Pewarnaan Gram	Merah / Batang pendek

Hasil identifikasi bakteri menunjukkan bahwa isolat bakteri adalah bakteri *Aeromonas hydrophila* karena memiliki karakteristik yang sesuai dengan pernyataan Holt *et al.* (1994) dan Cowan and Steel (1974) bahwa sifat bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah batang pendek, gram negatif, motil, indol positif, fermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa, urease positif, mereduksi nitrat dan produksi gas.

Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan penyebab penyakit *Motile Aeromonas Septicaemia* (MAS) atau *Bakterial Haemorrhagic Septicaemia* yang menyerang beragam jenis ikan air tawar termasuk diantaranya adalah ikan Lele (*Clarias batrachus*) (Hayes, 2000), dan juga dapat menyebabkan *ulcer's disease* atau *red sore disease* bila terdapat luka pada beberapa organ ikan terutama kulit (Swann, 1991).

Setelah diinfeksi *Aeromonas hydrophila*, ikan menunjukkan gejala klinis antara lain sirip rusak, gerakan renang yang lemah dan menggantung, insang rusak ditandai bercak merah keputihan sehingga ikan mengalami kesulitan bernafas (Gambar 4) ini sesuai dengan pendapat Kordi (2004) bahwa ikan yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* menunjukkan gejala klinis yaitu sirip rusak, mata menonjol, gerakan renang yang lemah dan menggantung di permukaan air, serta insang terdapat bercak merah keputihan. Hal ini sangat berbeda dengan saat ikan sebelum diberi perlakuan dimana seluruh sirip masih utuh dengan insang yang berwarna merah cerah disertai gerakan renang yang lincah.

Penularan bakteri *Aeromonas hydrophila* ini berlangsung melalui media air, kontak langsung dengan ikan terinfeksi, kontak dengan peralatan tercemar atau karena pemindahan ikan yang telah terinfeksi *Aeromonas hydrophila* dari satu tempat ke tempat yang lain (Kordi, 2004), disamping itu, tingkat kepadatan yang tinggi pada kolam benih ikan Lele (*Clarias batrachus*) juga dapat menyebabkan bakteri ini lebih cepat menyebar.

Pada umumnya metode penanggulangan penyakit bakterial yang banyak diterapkan saat ini adalah dengan penggunaan antibiotika, akan tetapi jika

diberikan terus dan tidak sesuai dosis dapat menyebabkan terjadinya resisten bakteri terhadap antibiotika (Nugroho, 1988).

Sasaran pengobatan antibakteri adalah membunuh atau mencegah menjalarnya infeksi yang disebabkan oleh bakteri, sehingga pertahanan tubuh dapat menetralkan pengaruh infeksi tersebut dan sebagai hasil perlawanan itu adalah kesembuhan (Hant *et al.*, 1982). Sebagai alternatif, daun tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) apabila diambil ekstraknya dan diaplikasikan pada hewan yang sakit dilaporkan mempunyai daya antibakterial terhadap beberapa bakteri (Kardono, 2003). Pelarut yang digunakan dalam ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) ini yaitu *ethanol*, hal ini disesuaikan dengan zat aktif yang terkandung dalam daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness). Zat aktif yang dimaksudkan adalah kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) yang mempunyai daya antibakterial berupa flavonoid, tanin, saponin, lakton dan juga *andrographolide* yaitu zat yang menghasilkan rasa pahit yang luar biasa dan umumnya mengandung racun (Winarto, 2003). Ekstraksi flavonoid didapat secara baik dengan *ethanol*, *methanol* atau *acetone*. Tannin tidak larut dalam air atau etil asetat, tetapi dapat diekstrak dengan *acetone* atau *ethanol* sedangkan saponin larut baik dalam air maupun *ethanol* tetapi tidak larut dalam eter (Robinson, 1995).

Kepadatan bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 10^8 CFU/ml karena pada kepadatan tersebut bakteri *Aeromonas hydrophila* bersifat patogen terhadap inang. Secara visual penentuan kepadatan bakteri dapat dilakukan dengan membandingkan kekeruhan bakteri dengan kekeruhan *Mc Farland* No

0,5 dimana kekeruhannya setara dengan kepadatan bakteri 10^8 CFU/ml (Koneman *et al.*, 1992).

Pada pengamatan total bakteri didapatkan bahwa ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) mempunyai aktivitas membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hambatan pertumbuhan mulai terjadi pada konsentrasi diatas 100 ppm, hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Total bakteri pada insang ikan Lele (*Clarias batrachus*) dengan berbagai perlakuan perendaman ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) .

Perlakuan (Dosis)	Rata-rata jumlah bakteri yang masih hidup
K (0 ppm)	$1,155 \times 10^9$ CFU/ml ^a
P (100 ppm)	$4,118 \times 10^6$ CFU/ml ^b
Q (200 ppm)	$2,202 \times 10^4$ CFU/ml ^c
R (300 ppm)	$1,52 \times 10^3$ CFU/ml ^d

Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata diantara perlakuan ($p < 0,05$).

Berdasarkan tabel tersebut diatas terlihat bahwa ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan besar kemampuan yang bervariasi dari setiap perlakuan pada konsentrasi yang berbeda. Penghitungan total bakteri tertinggi terdapat pada perlakuan tanpa bahan antibakterial (perlakuan kontrol), pada perlakuan perendaman dengan menggunakan ekstrak daun Sambiloto

(*Andrographis paniculata*, Ness) terjadi penurunan total bakteri berturut-turut menurun bersamaan dengan bertambahnya dosis yang diberikan.

Pengolahan data hasil penelitian dengan uji *one way Anova* (lampiran 7) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) terhadap jumlah total bakteri pada ikan Lele (*Clarias batrachus*) yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Hasil dilanjutkan menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (lampiran 8) menunjukkan bahwa pengaruh ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) sebagai obat antibakterial menunjukkan hasil yang terbaik pada perlakuan R (300 ppm) karena memiliki jumlah total bakteri *Aeromonas hydrophila* terendah, dengan jumlah rata-rata $1,52 \times 10^3$ CFU / ml atau dengan kata lain memiliki penurunan jumlah bakteri yang tertinggi, hal ini disebabkan karena dosis ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) yang tinggi sehingga kemampuan senyawa aktif yang terkandung didalamnya juga besar dalam menghambat atau membunuh *Aeromonas hydrophila* lebih optimal, ikan lele (*Clarias batrachus*) pada perlakuan ini memiliki gerakan renang yang sangat lincah dengan sirip yang utuh serta insang yang berwarna kemerahan jika dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

Pada perlakuan Q (200 ppm) yang memiliki jumlah total bakteri rata-rata $2,202 \times 10^4$ CFU / ml, walaupun penurunan jumlah bakteri tidak signifikan seperti pada perlakuan R, tetapi masih dapat ditolerir oleh ikan terlihat dari gerakan renang yang cukup lincah, pada bagian sirip hanya sedikit sekali terjadi kerusakan dan insang yang berwarna merah.

Untuk perlakuan P (100 ppm), dengan jumlah total bakteri rata-rata $4,118 \times 10^6$ CFU / ml, terdapat kerusakan sirip dan insang yang cukup parah, selain itu gerakan renang ikan pada perlakuan ini lebih lemah dari pada dua perlakuan sebelumnya (perlakuan Q dan R). Rendahnya zat aktif yang terkandung dalam daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) dalam perlakuan ini menyebabkan sangat minimnya kemampuan bakterisidal, akibatnya pertumbuhan bakteri sangat signifikan daripada perlakuan Q dan R, gerakan ikan sangat lemah, sebagian sirip rusak dan insang berwarna merah agak keputihan. Sedangkan untuk perlakuan yang memiliki penurunan jumlah bakteri yang paling rendah atau jumlah total bakteri terbanyak ($1,155 \times 10^9$ CFU / ml) didapatkan pada perlakuan K (0 ppm), ikan tampak menggantung dengan gerakan renang yang lemah, kerusakan sirip yang parah, mata menonjol dan insang yang berwarna merah keputihan, hal ini disebabkan karena tidak adanya suatu bahan yang dapat menekan pertumbuhan bakteri.

Semakin tinggi dosis antibakteri maka daya bunuh terhadap *Aeromonas hydrophila* juga semakin meningkat demikian pula sebaliknya, hal tersebut diperkuat oleh pendapat Jawetz *et al.* (1995) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu antibakterial maka semakin kuat kerjanya sebagai bakteriosidal.

Mekanisme kerja dari senyawa fenol yang terkandung dalam daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) dalam menghambat atau membunuh bakteri yaitu dengan mengubah struktur protein pada sel membran sehingga berpengaruh terhadap mekanisme kerja enzim (Capuccino dan Sherman, 1983), kondisi ini dapat menyebabkan terhambatnya pembelahan pertumbuhan sel, sel mengalami lisis dan mati (Ryandini *et al.*, 2004).

Zat aktif lain dari senyawa fenol yaitu saponin, menurut Siswandono dan Soekardjo (1995) saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dan meningkatkan permeabilitas sel membran bakteri sehingga dapat mengubah struktur serta fungsi sel membran dan menyebabkan kematian pada bakteri. Selain saponin juga terdapat zat aktif lain flavonoid. Flavonoid berkhasiat meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, memperbaiki kerapuhan kapiler, antifungi, antibakteri dan diuretik. Flavonoid menyebabkan denaturasi protein dan merusak membran sel bakteri. Denaturasi protein menyebabkan terhentinya aktivitas metabolisme bakteri sehingga menyebabkan kematian bakteri (Trease dan Evan, 1978). Senyawa fenol yang lain yaitu *andrographolide* yang memiliki kadar sebesar 2,5 – 4,8 % dari berat kering daun (Winarto, 2003), didalam tubuh, zat ini berfungsi sebagai imunostimulan yang dapat memodulasi fungsi imun spesifik maupun non spesifik dengan jalan menginduksi sel *natural killer*, makrofag dan sitokin (Peng *et al.*, 2002).

Menurut Jawetz *et al.*, (1995) mekanisme kerja dari semua zat antibakterial secara umum yaitu penghambatan sintesa dinding sel, penghambatan fungsi selaput sel, penghambatan sintesa protein dan penghambatan sintesis asam nukleat.

BAB VI
KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) secara perendaman dapat membunuh bakteri pada benih ikan Lele (*Clarias batrachus*) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*.
2. Pemberian ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) secara perendaman dengan dosis 300 ppm merupakan dosis yang paling baik untuk menurunkan jumlah bakteri pada benih ikan Lele (*Clarias batrachus*) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka saran-saran yang dapat diajukan adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata, Ness*) terhadap jenis bakteri yang lain.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui histopatologi dari ikan Lele (*Clarias batrachus*) yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila*.

3. Penggunaan dosis ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Nees) sebaiknya dibawah 300 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, A. dan E. Liviawaty. 1993. Pengendalian Hama dan Penyakit pada Ikan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Anonimus. 2002. Petunjuk Praktikum Ilmu Penyakit Bakterial. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 15-16 hal.
- Beisher. 1983. Microbiology in Practice Dividualizer Instruction for The Allies Health Sciences 3rd. Harper and Row Publisher. New York. 300-301 pp.
- Cappucino, J.G. and N. Sherman. 1983. Microbiology : A Laboratory Manual. Addison Wesley Publishing Company. p. 263-278.
- Cowan and Steel's. 1974. Manual for the Identification of Medical Bacteria. Second edition. Cambridge University Press. Cambridge New York. Hal 101-102.
- Dalimartha, S. 1999. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid 11. Penerbit Trobos Agriwidya. Ungaran.
- Hant, A.B., L. B. Robert and J.K.O Sandy. 1982. Pharmacology in Nursing. 15th Ed. The CV Mosby Company. London.
- Hayes, J. 2000. MB592 - Diseases of Fish. *Aeromonas hydrophila*. Spring Term 2000 Project. Oregon State University.
- Holt, J. G., Krieg, Noel R., Sneath, Peter HA., Staley, James T., William, Stanley T., Williams & Wilkins. . 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriologi. Ninth edition. A. Waverly Company. USA. Hal 190-191; 254-255.
- Jang, S. S, E. L. Biberstein and D. C. Hirsh. 1980. A Diagnostic Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Mycology. UNESCO / CIDA Regional Training Course. Paradeniya.
- Jawetz, E., J. Melnick, E. Adelberg, E. Nugroho, RF. Maulany, Setiawan dan Irawati. 1995. Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology). Edisi 20. Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Jakarta. Hal. 153-167.

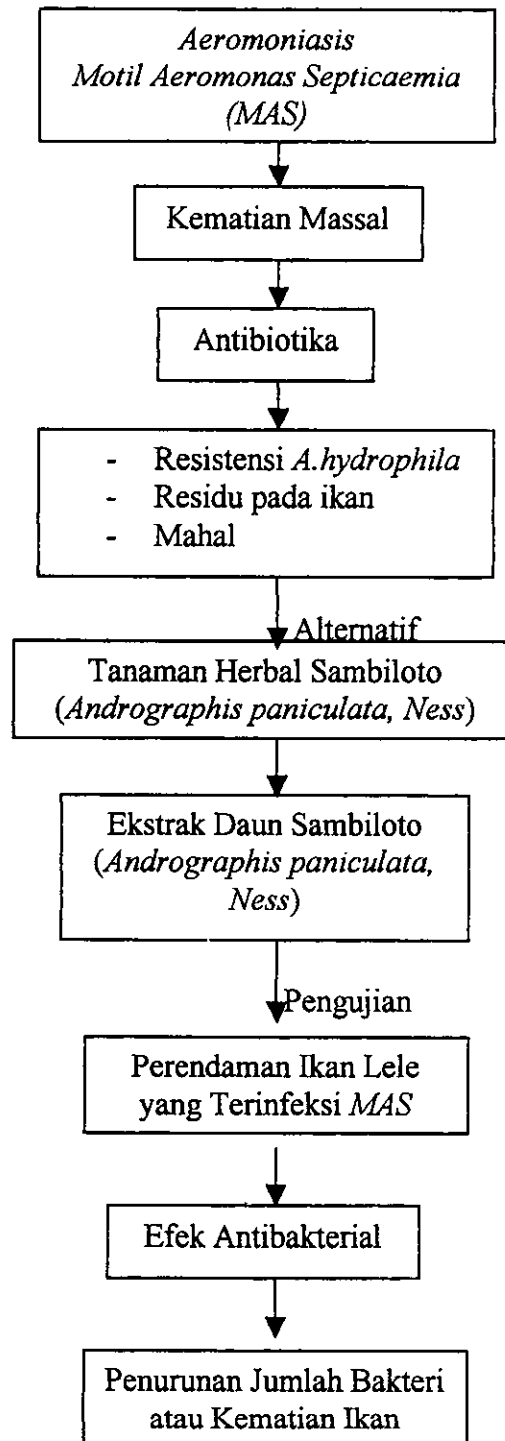
- Kardono, L.B.S 2003. Selected Indonesian Medicine Plant ; Monographs and Descriptions Volume 1. Penerbit Gramedia Widya Sarana. Jakarta.
- Khairuman dan K. Amri. 2002. Budidaya Lele Lokal secara Intensif. Penerbit Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Koneman, E. W., S.T. Allen, WM. Janda, PC. Schreckenberger, Win and Washington C. Jr. 1992. Diagnostic Microbiology. Fourth edition.. J.B. Lippicott Company. Philadelphia. Hal 649-650; 618-638.
- Kordi, K. 2004. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Penerbit Rineka Cipta dan Bina Adi Aksara. Jakarta.
- Kusriningrum. 1998. Diktat Kuliah Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Madigan, M.T, J. M. Martinko, and J. Parker. 2000. Biology of Microorganism 9th edition. Prentice Hall International Inc. USA (New Jersey). 991 pp.
- Nugroho, E. dan F. Pasaribu. 1988. Peningkatan Daya Tahan Ikan Terhadap Infeksi *Aeromonas Hydrophila* dengan Cara Vaksinasi. Seminar Nasional II Penyakit Pada Ikan dan Udang. Hal 83-86.
- Peng, G.Y., F. Zhou and R.L. Ding. 2002. Modulation of Lianbizi Injection (*andropholide*) on some Immune Functions. Zhongguo Zhong Yao Za Zi. Department of Microbiology and Immunology. Nanjing Medical University. China. 147-50 pp.
- Prapanza, E.P. dan Marianto. 2003. Khasiat dan Manfaat Sambiloto. Penerbit Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Penerbit ITB. Bandung. 367 hal.
- Ryandini, D., T.B. Suparyana dan S. Priyanto. 2004. Sensitivitas *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas fluorescens* Terhadap Ekstrak Polar Kayu Bengkirai. Proceeding Seminar Penyakit Ikan dan Udang Purwokerto. Kelompok B. Hal. 127 – 133.
- Siswandono dan B. Soekardjo. 1995. Kimia Medisinal. Airlangga University Press. Surabaya.

- Sitanggang, M. 2002. Mengatasi Penyakit dan Hama pada Penyakit Ikan. Agro Media Pustaka. Jakarta. 34-16 hal.
- Sutjiati, M. 1990. Diktat Kuliah Penyakit Ikan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Suyanto, R . 2002. Budidaya Ikan Lele. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.
- Swann, L.D. 1991. Diagnosis and Treatment of Aeromonas by Infection of Fish. Purdue University.
- Trease, G. and Evan. 1978, W.C. Pharmacology. Baillier. Tindal. London.
- Winarto, W.P. 2003. Sambiloto ; Budidaya dan Pemanfaatan untuk Obat. Penerbit Tim Karya Sari. Jakarta.
- WHO. 1998. Antimicrobial Resistance. Fact Sheet No. 194. World health Organization. Geneva. Switzerland. (<http://www.who.int/inf-fs/en/fact194.html>)
- Zonneveld, N.E.A, Huisman dan J.H Boon 1991. Prinsip-Prinsip Budidaya Ikan. Penerbit Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

LAMPIRAN

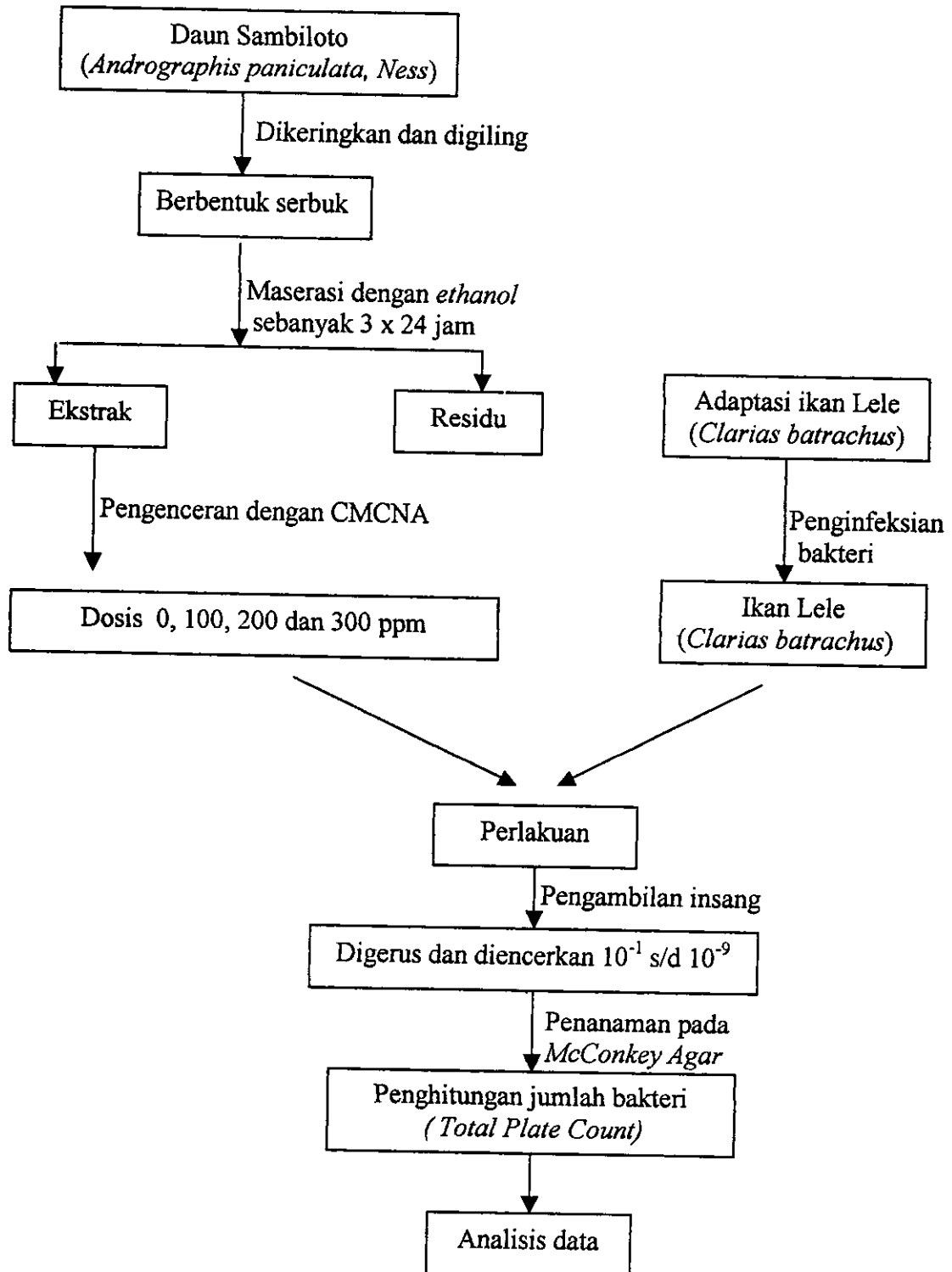
Lampiran 1

Bagan Kerangka Konseptual Penelitian



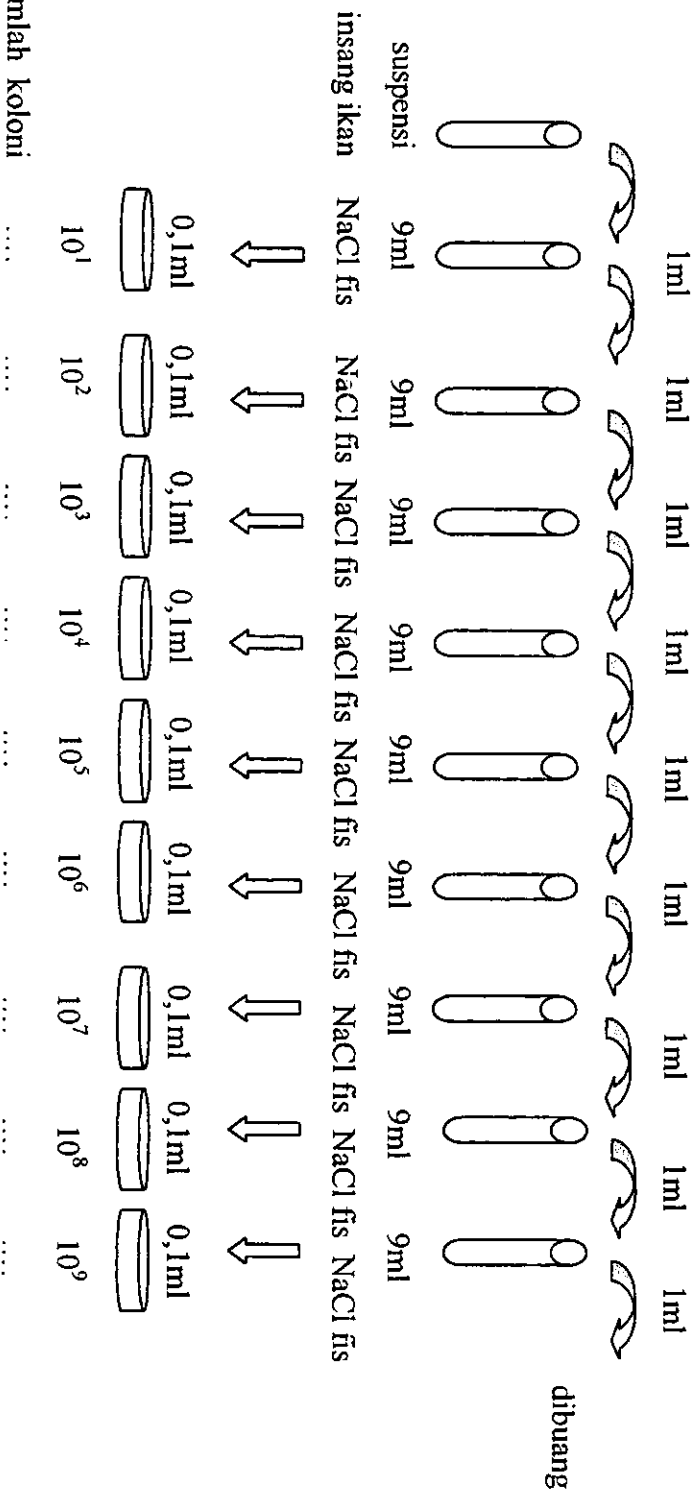
Lampiran 2

Prosedur Kerja Secara Skematis



Lampiran 3

Bagan Pengenceran dan Penghitungan *Aeromonas hydrophila* dari Insang Ikan



* Jumlah koloni bakteri yang dihitung : 30 – 300 (Beisher, 1983)

Lampiran 4

Hasil Total Bakteri pada Insang Ikan Lele (*Clarias batrachus*) Dengan Berbagai Perlakuan Perendaman Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness)

PERLAKUAN (Dosis)	ULANGAN					ΣX	X
	1	2	3	4	5		
K (0 ppm)	$5,6 \times 10^8$	$3,14 \times 10^8$	$5,17 \times 10^8$	$4,25 \times 10^8$	$3,96 \times 10^9$	$5,776 \times 10^9$	$1,155 \times 10^9$
P (100 ppm)	$3,34 \times 10^6$	$3,725 \times 10^6$	$4,15 \times 10^6$	$5,055 \times 10^6$	$4,32 \times 10^6$	$2,059 \times 10^7$	$4,118 \times 10^6$
Q (200 ppm)	$1,2 \times 10^4$	$1,9 \times 10^4$	$3,025 \times 10^4$	$2,25 \times 10^4$	$2,635 \times 10^4$	$1,101 \times 10^5$	$2,202 \times 10^4$
R (300 ppm)	0	0	$3,1 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3$	0	$7,6 \times 10^3$	$1,52 \times 10^3$

Lampiran 5

Hasil Total Bakteri pada Insang Ikan Lele (*Clarias batrachus*) Dengan Berbagai Perlakuan Perendaman Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) (Setelah ditransformasikan ke $\text{Log } Y + 1$)

PERLAKUAN (Dosis)	ULANGAN					ΣX	x
	1	2	3	4	5		
K (0 ppm)	8,748	8,496	8,713	8,628	9,597	44,182	8,836
P (100 ppm)	6,523	6,5711	6,618	6,7037	6,6354	33,051	6,61
Q (200 ppm)	4,0791	4,2787	4,4807	4,3521	4,4207	21,611	4,322
R (300 ppm)	0	0	3,4913	3,6532	0	7,1445	1,4289

Lampiran 6

Rancangan Acak Lengkap

Ulangan	Perlakuan				Total
	K (0 ppm)	P (100 ppm)	Q (200 ppm)	R (300 ppm)	
1	8,748	6,523	4,0791	0	
2	8,496	6,5711	4,2787	0	
3	8,713	6,618	4,4807	3,4913	
4	8,628	6,7037	4,3521	3,6532	
5	9,597	6,6354	4,4207	0	
Total	44,182	33,051	21,611	7,1445	105,9885
Rata-rata	8,836	6,61	4,322	1,4289	21,1969

Lampiran 7

Hasil Uji *One Way Anova*

Descriptives

JMLBAKT

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
.0000	5	8.836400	.4361356	.1950458	8.294866	9.377934	8.4960	9.5970
100.0000	5	6.610200	.0681189	.0304637	6.525619	6.694781	6.5230	6.7037
200.0000	5	4.322260	.1554898	.0695372	4.129194	4.515326	4.0791	4.4807
300.0000	5	1.428900	1.9574390	.8753933	-1.001582	3.859382	.0000	3.6532
Total	20	5.299440	2.9649096	.6629739	3.911820	6.687060	.0000	9.5970

Test of Homogeneity of Variances

JMLBAKT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
51.527	3	16	.000

ANOVA

JMLBAKT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	F value	
						0.05	0.01
Between Groups	150.821	3	50.274	49.646	.000	3.24	5.29
Within Groups	16.202	16	1.013				
Total	167.023	19					

Lampiran 8

Hasil Uji *Duncan Multiple Rate Test*

Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

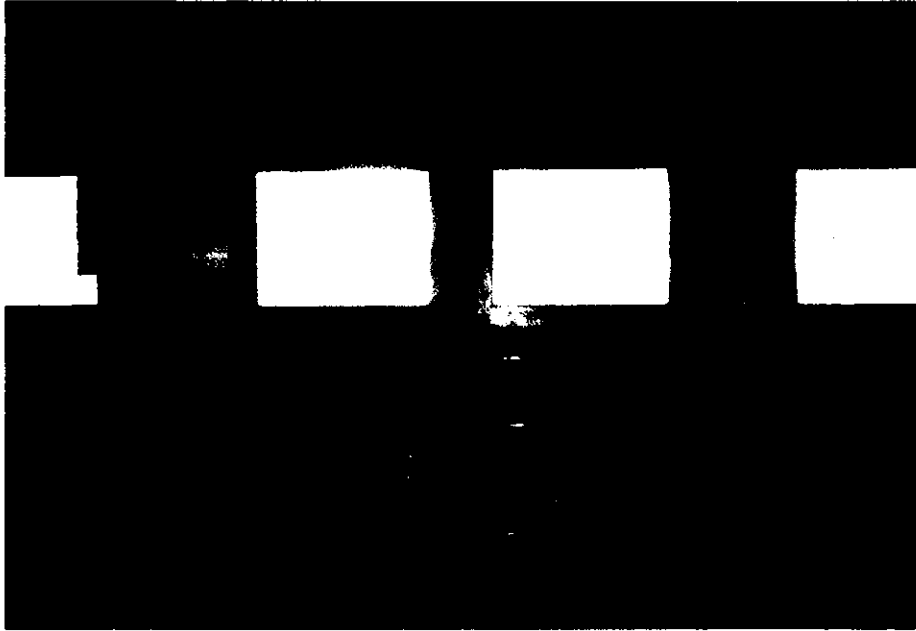
JMLBAKT

Duncan^a

DOSIS	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
300.0000	5	1.428900			
200.0000	5		4.322260		
100.0000	5			6.610200	
.0000	5				8.836400
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

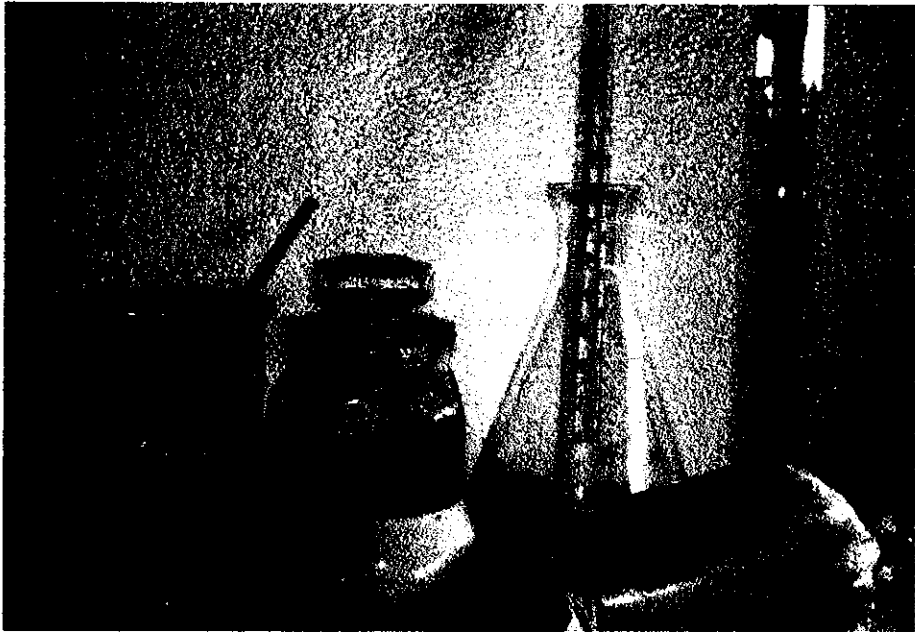
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Gambar

Gambar 3. Proses perlakuan penelitian



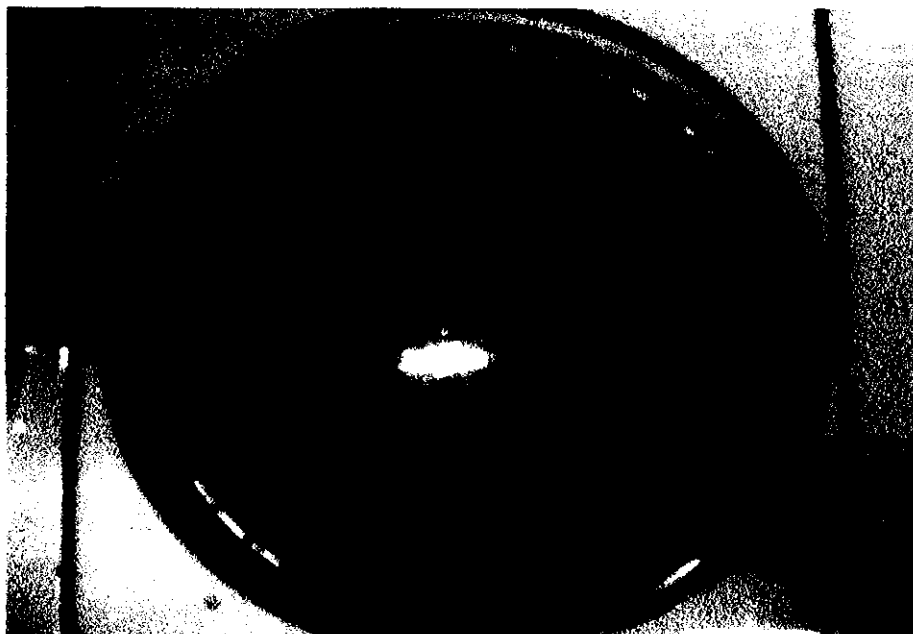
Gambar 4. Ikan yang terinfeksi



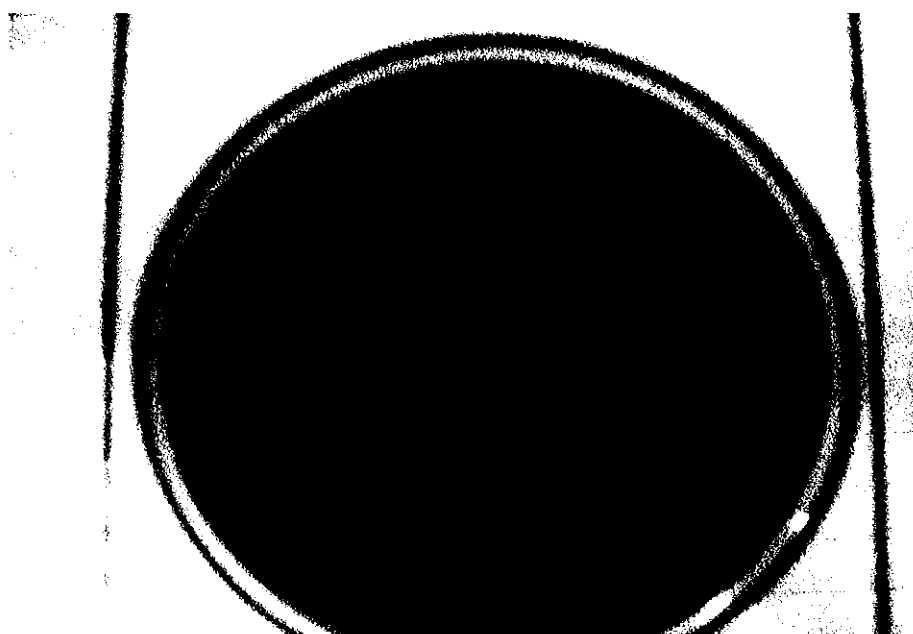
Gambar 5. Peralatan perlakuan



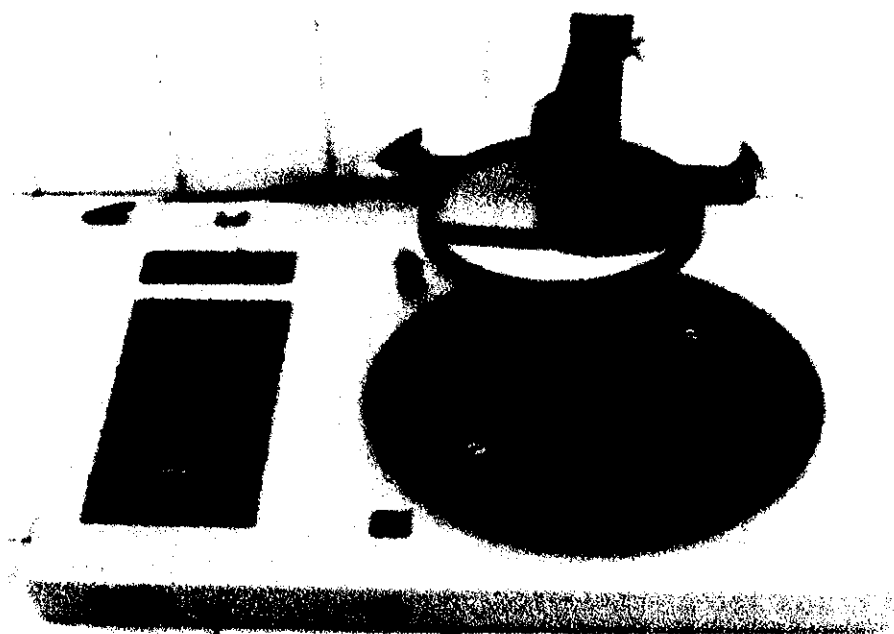
Gambar 6. Hasil uji biokimiawi



Gambar 7. Media yang ditumbuhi bakteri



Gambar 8. Media yang tidak ditumbuhi bakteri



Gambar 9. *Colony counter*